

Antibodies to Klebsiella, Proteus, and HLA-B27 peptides in Japanese patients with ankylosing spondylitis and rheumatoid arthritis

著者	谷 仁孝
発行年	1998-06-30
その他の言語のタイトル	日本人強直性脊椎炎患者および慢性関節リウマチ患者における抗クレブシェラ抗体、抗プロテウス抗体、抗HLA-B27抗体 ニッポンジン キョウチョクセイ セキツイエン カンジャ オヨビ マンセイ カンセツ リウマチ カンジャ ニ オケル コウクレブシェラ コウタイ コウプロテウス コウタイ コウHLA-B27 コウタイ
URL	http://hdl.handle.net/10422/2538

氏名・(本籍)	谷 仁 孝 (滋賀県)
学位の種類	博士 (医学)
学位記番号	博士 (論) 第236号
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位授与年月日	平成10年6月30日
学位論文題目	Antibodies to <i>Klebsiella</i> , <i>Proteus</i> , and HLA-B27 Peptides in Japanese patients with Ankylosing Spondylitis and Rheumatoid Arthritis (日本人強直性脊椎炎患者および慢性関節リウマチ患者における抗クレブシェラ抗体、抗プロテウス抗体、抗HLA-B27抗体)
審査委員	主査 教授 瀬 戸 昭 副査 教授 馬 場 忠 雄 副査 教授 福 田 眞 輔

論文内容の要旨

【目 的】

強直性脊椎炎 (ankylosing spondylitis 以下AS) および慢性関節リウマチ (rheumatoid arthritis 以下RA) と細菌感染との関連を調べるため、日本人患者血清中の抗*Klebsiella pneumoniae*抗体および抗*Proteus mirabilis*抗体を測定した。

また、多くのAS患者が持つHLA-B27遺伝子と*K.pneumoniae*の酵素であるpullulanase-Dとの関連 (分子相同説) を調べるため、合成ペプチドを作成し、これに対する患者血清中の抗体を測定した。

【方 法】

日本人AS患者52名、RA患者50名、健常人50名の血液を採取し、血清を分離、凍結した。同時に、AS、RA患者は赤血球沈降速度 (erythrocyte sedimentation rate 以下ESR) およびC-reactive protein (以下CRP) を測定した、ESR20mm/h以上かつCRP10mg/l以上の患者を、“active”、どちらか一方を満たす者を“probable active”、ESR20mm/h未満かつCRP10mg/l未満の者を“inactive”とした。ASはactive; 29名、inactive; 23名、RAはactive; 30名、probable active; 20名であった。

これらの血清中の、*K.pneumoniae*、*P.mirabilis*、*Escherichia coli*の3種類の細菌に対する抗体 (IgG, IgA, IgM class) をenzyme linked immunosorbent assay (以下ELISA) 法を用いて測定した。ELISAプレートに細菌をコートし1/200 に希釈した血清を反応させた。さらにウサギ抗ヒト免疫グロブリン抗体を反応させた後、ABTSで発色させ、630nmの吸光度を測定した。

次に、3種類の合成ペプチド (HLA-B27の一部と同様のアミノ酸配列を持ったペプチド; CKAKAQTdredRTLL, *K.pneumoniae*の酵素であるpullulanase-Dと同様のアミノ酸配列を持ったペプチド; RPTVIRdrdeYRQASS、対象ペプチド; PRTVRSIDIDYRQAESR) に対する血清抗体を、細菌の場合と同様、ELISA法を用いて測定した。合成ペプチドをELISAプレートにコートし、1/50に希釈した血清を反応させた。さらにウサギ抗ヒト免疫グロブリン抗体を反応させた後、ABTSで発色させ、630nmの吸光度を測定した。

すべての実験は盲検法で行った。すなわち、実験者 (申請者) にはサンプル (血清) の疾患名、炎症活動性は知らされず、すべての測定終了後に公開し、統計的処理を行った (Student's t test使用)。

【結 果】

1) 細菌

activeAS患者において抗クレブシェラIgA抗体が対照と比較し、有意に高値を示した ($t=5.72$, $p<0.001$)。また、この抗クレブシェラIgA抗体レベルとESR ($r=0.606$, $p<0.001$)、CRP ($r=0.540$, $p<0.001$)は相関していた。抗クレブシェラIgG、IgM 抗体は有意な上昇は認められなかった。inactiveAS患者、RA患者においては、すべての抗クレブシェラ抗体は上昇していなかった。

active RA患者において、抗プロテウスIgG抗体 ($t=14.10$, $p<0.001$)、IgM抗体 ($t=4.01$, $p<0.001$) が対照と比較し、有意に高値を示した。またprobable active RA患者において、抗プロテウスIgG抗体が有意に高値を示した ($t=8.30$, $p<0.001$)。これらの有意に上昇した抗プロテウス抗体レベルとESR、CRPとの間に相関は認められなかった。AS患者においては、すべての抗プロテウス抗体の有意な上昇は認められなかった。

AS、RA患者とも、抗*E.coli*抗体の有意な上昇は認められなかった。

2) 合成ペプチド

active AS患者において、抗HLA-B27ペプチド抗体が有意に上昇していた (IgG ; $t=11.94$, $p<0.001$, IgA ; $t=8.298$, $p<0.001$, IgM ; $t=7.503$, $p<0.001$)。inactive AS患者においても、IgG抗体 ($t=5.908$, $p<0.001$)、IgA抗体 ($t=5.776$, $p<0.001$) が有意に上昇していた。active AS患者のIgG抗体レベルとCRPとの間に相関を認めた ($r=0.332$, $p<0.001$)。

active AS患者において、抗pullulanase-DペプチドIgG抗体 ($t=10.37$, $p<0.001$)、IgA抗体 ($t=5.646$, $p<0.001$) が有意に上昇していた。IgG抗体レベルとESR ($r=0.498$, $p<0.001$)、CRP ($r=0.426$, $p<0.01$) との間に相関を認めた。また、IgA抗体レベルとESRとの間に相関を認めた ($r=0.339$, $p<0.05$)。

RA患者では、抗合成ペプチド抗体の有意な上昇は認めなかった。

【考 察】

*K.pneumoniae*とASとの関連は以前より指摘されてきた。とくに、AS患者血清中の抗クレブシエラ抗体の上昇は、欧米において複数のグループが報告しているが、東洋人についてはこれまで研究されていなかった。今回のわれわれの研究で、日本人AS患者において血清中の抗クレブシエラ抗体の上昇が証明された。よって、ASと*K.pneumoniae*との関連は人種や生活様式の差を越えたものであり、ASの病因に深く関わっている可能性を示唆した。これと同様、本研究において、*P.mirabilis*とRAとの関連も示された。

AS患者の90%以上はHLA-B27遺伝子を持つ。先に示した*K.pneumoniae*感染とB27を結ぶ仮説として分子相同説がある。これまで、細菌酵素のnitrogenaseとB27との分子相同性(-QTDRED-)が唱えられてきたが、本研究ではB27の分子配列の一部(-DRED-)と鏡面構造上、類似したpullulanase-D(-DRDE-)との関連を合成ペプチドを用いて明らかにし、新しい分子相同説の可能性を示した。

論文審査の結果の要旨

本研究は、日本人の強直性脊椎炎 (AS) および慢性関節リウマチ (RA) と細菌感染の関連を調べるため、患者血清中の抗細菌 (*Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*) 抗体価を測定したものである。また、AS患者の90%以上が陽性であるHLA-B27と*K.pneumoniae*の酵素、pullulanase-D、の分子相同部分を含んだ合成ペプチドに対する血清抗体価を測定し、AS病因に関する分子擬態説を検討した。その結果、

- 1) AS患者血清中の*K.pneumoniae*に対するIgA抗体価が有意 ($p<0.001$) に上昇していた。この抗体価と赤血球沈降速度およびCRPの間に相関を認めた。
- 2) RA患者血清中の*P.mirabilis*に対するIgG, IgM抗体価が有意 ($p<0.001$) に上昇していた。
- 3) AS患者血清中のHLA-B27 peptideに対するIgG, IgA, IgM抗体価、およびpullulanase-D peptideに対するIgG, IgA抗体価が有意 ($p<0.001$) に上昇していた。

以上の結果は、本邦患者において初めてASと*K.pneumoniae*感染およびRAと*P.mirabilis*感染の関連を示したものであり、また、ASの病因としてHLA-B27とpullulanase-Dとの分子擬態説を支持したものである。

よって、博士 (医学) の学位を授与するに値するものと認める。